

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004年5月13日 (13.05.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/039578 A1(51) 国際特許分類⁷: B32B 5/26, A61L 27/14, 27/56, 27/38

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/013847

(22) 国際出願日: 2003年10月29日 (29.10.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2002-319169
2002年10月31日 (31.10.2002) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): ニプロ株式会社 (NIPRO CORPORATION) [JP/JP]; 〒531-8510 大阪府 大阪市北区本庄西 3丁目9番3号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

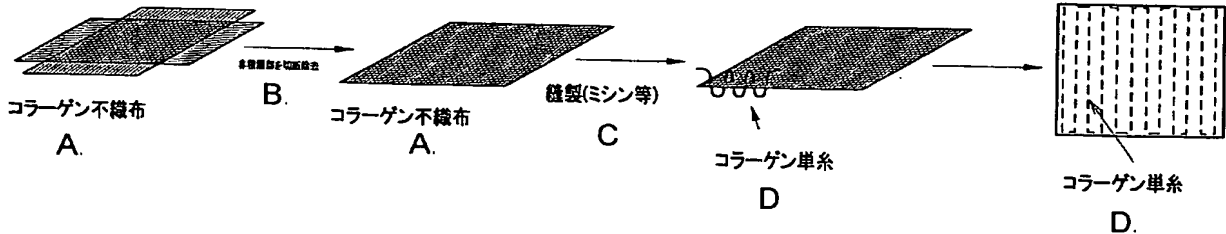
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 守永 幸弘 (MORINAGA, Yukihiro) [JP/JP]; 〒531-8510 大阪府 大阪市北区本庄西 3丁目9番3号 ニプロ株式会社内 Osaka (JP). 松田 和久 (MATSUDA, Kazuhisa) [JP/JP]; 〒531-8510 大阪府 大阪市北区本庄西 3丁目9番3号 ニプロ株式会社内 Osaka (JP). 神村 亮介 (KAMIMURA, Ryosuke) [JP/JP]; 〒531-8510 大阪府 大阪市北区本庄西 3丁目9番3号 ニプロ株式会社内 Osaka (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ,

[続葉有]

(54) Title: BIODEGRADABLE SUBSTRATE, PROSTHETIC MATERIAL FOR TISSUE REGENERATION AND CULTURED TISSUE

(54) 発明の名称: 生分解性基材及び組織再生用補綴材並びに培養組織



A...NONWOVEN COLLAGEN FABRIC
 B...REMOVING NON-LAMINATED PART
 C...STITCHING (WITH SEWING MACHINE, ETC.)
 D...COLLAGEN FILAMENT

(57) Abstract: A biodegradable substrate usable as a prosthetic material for medicinal use (for example, tissue regeneration) or a cell culture substrate which is highly compatible with cells, in particular, facilitates the invasion of cells into the inside of the substrate and has a thick structure similar to woven fabrics without resort to any troublesome techniques such as lamination or weaving/knitting. The biodegradable substrate is obtained by stitching a biodegradable nonwoven fabric with a biodegradable threadlike article. As the nonwoven fabric, use is made of, for example, a material wherein first and second layers, each having filaments of a threadlike article made of collagen located in parallel, are laminated and adhered to each other so that the alignment direction of the filaments of the threadlike article in the first layer and that of the second layer are arranged at a certain angle. This nonwoven fabric is stitched with a threadlike article made of collagen. It is also possible that a filmy material having been treated with a biodegradable binder such as collagen or gelatin is piled on the nonwoven fabric and stitched.

[続葉有]



TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正書受領の際には再公開される。

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(57) 要約:

本発明は、細胞親和性、特に基材内部への細胞侵入を容易にし、重層化や織り編み等の技術的に困難な工程を伴うことなく、厚みある織布に近い構造を有する医療用、例えば組織再生用の補綴材や細胞培養基材として用いることのできる生分解性基材に関する。生分解性の不織布を生分解性の糸状物で縫製し、本発明の生分解性基材を得る。不織布として、例えば、コラーゲン糸状物が複数本平行に配列されてなる第 1 の層と第 2 の層を、第 1 の層と第 2 の層との糸状物の配列方向が角度をなすように積層し、相互に接着したものをを用い、コラーゲン糸状物で縫う。また、不織布にコラーゲンやゼラチンのような生分解性物質でバインダー処理した膜状物を重ね合せて縫製してもよい。

明 細 書

生分解性基材及び組織再生用補綴材並びに培養組織

技術分野

- 5 本発明は、生分解性基材、すなわちコラーゲンに代表される生分解性物質からなる医療用の基材に関する。詳細には再生医療における移植用細胞培養基材等の各種培養基材としての用途並びに生体内欠損部を補填することにより再生誘導を促す各種補填材、補綴材としての用途に用いられる医療用基材、また、徐放性DDS担体、遺伝子治療用担体等の各種担体としての用途にも利用しうる医療用基材
- 10 に関する。さらに、本発明はこれらの用途に関するものであり、具体的には、組織再生用補綴材及び培養組織に関する。

背景技術

- 15 近年、医療用基材として、コラーゲンやゼラチン、ヒアルロン酸などの生分解性物質からなる織布や不織布、あるいはコラーゲン系からなる立体的な形状を有する織物や編物を用いることが種々提案されている（例えば、特開平9-47502号公報（第2-3頁）、特許第3086822号公報、特開2000-93497号公報
- 20 、特開2000-210376号公報、特開2000-271207号公報、特表平9-510639号公報参照）。

- これらの医療用基材は、物質透過性や細胞侵入性などの細胞親和性に優れており、基材表面積も比較的確保できる点で好ましい。特に、これらは生分解性物質から作製されているため、生体内で異物
- 25 反応を起こさず、そのまま長期間埋入しておける利点を有する。

しかし、コラーゲン繊維やゼラチン繊維からなる不織布は、通常、湿式抄紙法で作製されるが、得られた不織布は総じて脆弱である。また、スラリー化した系状物を均一に分散させることが難しく、

強度や厚みを均一化することが困難である。

また、不織布はそれ自体厚みを有しないので、ある程度の厚みを有する立体的な組織を作製するには薄く作製した組織を重層化しなければならない。このため、予め積層した基材を用いたり、培養された組織を積層するなど、煩雑な作業が必要とされる。

さらに、不織布の強度を増すために、得られた不織布にコラーゲンやゼラチン等の希薄溶液を噴霧して膜状物を形成させることも行われているが、この作業も煩雑であり、何よりも物質透過性や細胞侵入性が低下してしまい、細胞培養用の基材としては十分なものではなかった。

この点、特表平 9-510639 号公報に記載されたコラーゲン系が織り編みされた立体的な基材は、かかる欠点もなく、細胞親和性もよく、優れた強度を有しているので、細胞培養用の基材としては好ましいものである。

しかしながら、立体的な形状を有する織布等は多軸方向に沿った系を有し、コラーゲン系を立体的に織り編まなければならないので、その製造には技術的な困難を伴う。

また、織り編み可能な程度の強度を有する単系（コラーゲン系）を製造することが非常に困難で、かつ製造できたとしても合成繊維等に比べて強度が低く、単系そのものの製造は非常に難しい。このため、特表平 9-510639 号公報の実施例ではまず 2 諸撚系を得ることにしている。

本発明の課題は、このような従来技術の問題点に鑑みてなされたものであって、その目的とするところは、細胞親和性、特に基材内部への細胞侵入を容易にし、重層化や織り編み等の技術的に困難な工程を伴うことなく、厚みある織布や編み布に近い構造を有する医療用の生分解性基材を提供することにある。

発明の開示

本発明の生分解性基材は、生分解性不織布が、生分解性系状物によって縫製されたことを特徴としている。

5 また、本発明の生分解性基材は、生分解性不織布と生分解性膜状物が重ね合わされ、生分解性系状物によって両者が縫製されたことを特徴としており、この生分解性基材においては、前記生分解性膜状物として、フィルム状又はスポンジ状のものをを用いるのが好ましい。

10 本発明においては、前記生分解性不織布として、例えば、生分解性系状物を複数本平行に配列されてなる第1の層と第2の層が、第1の層と第2の層との系状物の配列方向が角度をなすように積層し、相互に接着している積層体を含むものを用いることができる。

15 また、第1の層又は第2の層の上に、さらに生分解性系状物が複数本平行に配列された第3の層が、該第3の層の系状物の配列方向と該第3の層と接する層の系状物の配列方向が角度をなすように積層し、相互に接着している積層体を含む生分解性不織布を用いることもできる。

20 これらの場合において、前記第1の層の系状物の配列方向と第2の層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度及び／又は前記第3の層の系状物の配列方向と該第3の層と接する層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度が、約20°以下であるものが好ましい。

25 また、前記第1の層の系状物の配列方向と第2の層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度及び／又は前記第3の層の系状物の配列方向と該第3の層と接する層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度が、約70°～90°であるものが好ましい。

さらに、前記生分解性不織布として、系状物を配列されてなる層が複数積層された前記積層体を複数含み、積層体同士が接する部分において互いに接する層の系状物の配列方向が角度をなすように積

層体が積層し、相互に接着しているものを用いることもできる。

これらの生分解性不織布においては、各層において配列された各系状物がなす鋭角の角度が、約 $0 \sim 5^\circ$ のものが好ましく、また、各層において配列された系状物の間隔が約 $0 \sim 40 \text{ mm}$ であるものがより望ましい。

本発明においては、縫製を点状にすることもできる。また、縫製の間隔は約 $0.1 \text{ mm} \sim 100 \text{ mm}$ とするのがよい。

さらに、本発明においては、生分解性不織布の表面及び／又は生分解性系状物の表面が生分解性物質でコーティングされたものを用いるのが好都合である。当該生分解性物質には、例えば、コラーゲン、ゼラチン、PLA、PLA誘導体、PGA及びPGA誘導体並びにPLA、PLA誘導体、PGA、PGA誘導体のうち何れか2種以上による共重合体からなる群から選ばれた何れか1種以上からなることを特徴としている。

また、本発明において用いられる生分解性不織布及び／又は生分解性系状物は、コラーゲン、ゼラチン、PLA、PLA誘導体、PGA及びPGA誘導体並びにPLA、PLA誘導体、PGA、PGA誘導体のうち何れか2種以上による共重合体からなる群から選ばれた何れか1種以上からなるものが好適である。

本発明の組織再生用補綴材は、生体組織の欠損部に補填される組織再生用補綴材であって、上記本発明の生分解性基材からなることを特徴としている。

また、本発明の培養組織は、上記本発明の生分解性基材に生体組織細胞が生着されたことを特徴としている。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明において用いられる生分解性不織布の製造方法の一例を示す説明図である。

第2図は、本発明の一実施形態である生分解性基材の製造方法を示す説明図である。

第3図は、本発明の別な実施形態である生分解性基材の製造方法を示す説明図である。

5 第4図は、培養により繊維芽細胞が本発明の生分解性基材に生着した状態を示す写真である。

第5図は、培養によりヒト軟骨細胞が本発明の生分解性基材に生着した状態を示す写真である。

10 発明を実施するための最良の形態

本発明の生分解性基材は、生分解性不織布からなり、該生分解性不織布が生分解性系状物によって縫製されたことを特徴としている。本発明における生分解性とは、人や動物の生体内に置いた場合に人や動物組織と融合しあるいは生体内で分解して消失しうることを意味するものであって、生体に適合可能なものが用いられる。本発明で用いられる生分解性不織布や生分解性系状物として、例えばコ
15 ラーゲン、ゼラチン等の生体由来材料からなるもの、あるいはP L A（ポリ乳酸）、P L A誘導体、P G A（ポリグリコール酸）、P G A誘導体並びにP L A、P L A誘導体、P G A、P G A誘導体の
20 うち何れか2種以上による共重合体等の生分解性合成材料からなるものが挙げられる。中でも、細胞親和性、生体適合性の点からコラーゲンが好適である。更に、可溶化処理と同時にコラーゲンの抗原決定基であるテロペプチドの除去処理が施されているアテロコ
25 ラーゲンが最適である。また、コラーゲンの由来については、特に限定されないが、一般的にはウシ、ブタ、鳥類、魚類、ウサギ、ヒツジ、ネズミ、人等が挙げられる。コラーゲンはこれらの動物種の皮膚、腱、骨、軟骨、臓器等から公知の各種抽出方法を用いることにより得られる。また、コラーゲンのタイプは、I型、II型、III型

などの分類可能なタイプのうちいずれかに限定されるものではないが、取り扱い上の観点から、I型が特に好適である。

本発明に用いられる生分解性不織布は、従来から公知である種々の不織布が用いられ、上記特許文献1や特許文献2に記載された不織布が例示される。また、次に述べるように、生分解性のある糸状物5が複数本平行に配列されてなる第1の層と第2の層が積層された積層体構造を含む不織布が特に好適に用いられる。

ここにおいて生分解性のある糸状物が複数本平行に配列された層とは、複数本の糸状物が同一平面状に略均等な間隔をあけて直線的に配置された層であり、同じ層において配列された糸状物のなす角度は約0°〜5°であり、好ましくは約0°である。つまり、本発明において平行とはこの角度の範囲を意味し、厳密な意味での平行を言うものではない。また、同一層での糸状物の間隔は、通常、約0〜40mmであり、好ましくは約0〜10mm、さらに好ましくは約0〜1mmである。

また、積層とは、第1の層の糸状物の配列方向と第2の層の糸状物の配列方向が角度をなして重ね合わされ相互に接着していることを示し、第1の層に配列された糸状物と第2の層に配列された糸状物の配列方向がなす鋭角の角度が0°ではないことを示す。また、第1の層と第2の層が積層するとは、第1の層と第2の層が互いの面で接触している状態である。

本発明にて好適に用いられる生分解性不織布は、少なくともこのような2層からなる積層体を含むものであって、同様の生分解性糸状物が複数本平行に配列された第3の層が、第1の層又は第2の層の糸状物の配列方向と第3の層の糸状物の配列方向とが角度をなすように積層し、相互に接着された3層の積層体を含む生分解性不織布であってもよい。さらに、上記第1の層と第2の層からなる積層体の両面に、同様の生分解性糸状物が複数本平行に配列された層が

同様に積層された4層からなる積層体、また、さらに糸状物が平行に配列された層が同様に積層された5層以上の層からなる積層体を含むようにしてもよい。このように、当該不織布は、互いに接する層における糸状物の配列方向が角度をなして2層以上積層された積層体を含むものである。なお、本発明において、層が互いに接するとは、糸状物が配列された層が互いの面で接触している状態を意味し、互いに接する層とは面で接触した状態で重ね合わせられた上下2つの層を意味する。また、第3の層として積層される層における糸状物同士がなす角度や糸状物の間隔は、上記範囲内のものが好ましい。

これらの不織布においては、第1の層と第2の層の糸状物の配列方向がなす鋭角の角度が 0° でなければよいが、好ましくは 20° 以下、望ましくは 10° 以下である。また、生分解性糸状物の配列方向が角度をなすのは、互いに接する層の配列方向であって、接していない層同士の糸状物配列方向は必ずしも角度をなす必要がなく、なす角度が 0° であってもよい。例えば、3層からなる積層体において第3の層が第2の層の上に積層された場合、第1の層と第2の層、並びに、第2の層と第3の層の糸状物の配列方向は角度をなす必要があるが、第1の層と第3の層の糸状物の配列方向は、角度をなしていてもよく、そのなす角度が 0° であってもよい。また、第3の層と第2の層の糸状物の配列方向がなす角度も、好ましくは約 20° 以下、望ましくは 10° 以下である。なお、第1の層と第3の層の糸状物の配列方向がなす角度が 0° になる場合とは、第1の層の糸状物の配列方向に対して第2の層の糸状物の配列方向がなす鋭角の角度が 20° であれば、第3の層の糸状物の配列方向がなす鋭角の角度は第2の層の糸状物の配列方向に対して -20° となる場合である。もちろん、第3の層の糸状物の配列方向が、第2の層の糸状物の配列方向に対してさらに 20° 、つまり、第1の層の

系状物の配列方向に対して 40° の鋭角となっても何ら差し支えない。

また、本発明の不織布にあっては、第1の層と第2の層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度が、好ましくは約 $70^\circ \sim 90^\circ$ 、望ましくは約 $80^\circ \sim 90^\circ$ であってもよい。この場合にも、生分解性系状物の配列方向が角度をなすのは、互いに接する層の配列方向であって、接していない層同士の系状物配列方向は必ずしも角度をなす必要がなく、なす角度が 0° であってもよい。さらに、第3の層を積層する場合にも、当該第3の層と接する層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度が好ましくは約 $70^\circ \sim 90^\circ$ 、望ましくは $80^\circ \sim 90^\circ$ である。この範囲の角度で第1の層、第2の層、第3の層と積層すれば、各層において平行に配列された系状物が直交に近い状態で積層された不織布が得られる。

上記3層以上の複数の層からなる積層体としては、積層される系状物の配列方向がなす角度が一定に保たれた積層体であってもよく、系状物の配列方向のなす角度がランダムな積層体であってもよい。前者としては、例えば、第2の層の上に積み重ねられた第3の層の系状物と第1の層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度が 0° であって、いわば第1の層と第2の層の系状物の配列方向のなす鋭角の角度が 20° 以下の一定の角度で第1の層と第2の層が交互に積層された積層体が挙げられる。また、後者としては、例えば、互いに接する層の系状物の配列方向のなす角度が 20° 以下の範囲で変化しながら、第1の層、第2の層、第3の層・・・と順次ランダムに積層された積層体が挙げられる。

さらに、本発明において用いられる不織布は、このような複数の層からなる積層体を複数積み重ねられることによって形成された積層体を含むものであってもよい。例えば、上記第3の層が、第1の層及び第2の層が交互に積層した積層体とは別の第2の積層体を形

成する場合である。この場合には、積層体同士が接する部分において互いに接する層の系状物の配列方向は角度をなしており、上記第3の層が第2の積層体を形成する場合であれば、第1の積層体を形成する最上層である第2の層と第2の積層体を形成する最下層である第3の層の系状物の配列方向が角度をなしている。また、この第2の積層体は、複数の第3の層が積層した積層体であって、第1の積層体と同様に、生分解性系状物を複数本平行に配列されてなる第1の層と第2の層が、第1の層と第2の層との系状物の配列方向が角度をなすように積層し、相互に接着しているものや、さらに3層以上の層が積層し、相互に接着しているものである。

この複数の積層体が積層された不織布では、積層体同士が接する部分において互いに接する層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度が 0° 以外であればよいが、好ましくは $70^{\circ} \sim 90^{\circ}$ 、望ましくは $80^{\circ} \sim 90^{\circ}$ である。例えば、系状物の配列方向のなす鋭角の角度が 20° 以下で積層された積層体をその角度が 70° 以上で積層すれば、不織布を構成する系状物が縦横に配列された不織布が得られる。また、 20° 以下の角度で積層すれば、上記第1の層、第2の層が交互により多く積層されたのと同じ効果を得ることができる。3つ以上の積層体を積み重ねる場合、積層体同士が接する部分におけるその角度は一定に保たれていてもよく、ランダムであってもよい。前者として、例えば、その鋭角の角度が約 $70^{\circ} \sim 90^{\circ}$ の一定角度で、第1の積層体と第2の積層体が交互に積み重ねられた積層体が挙げられる。

これらにおいては、互いに接する層の系状物同士がその接触部で接着されることによって、不織布が形成される。例えば、生分解性系状物が、後述する湿式紡糸法において生成された乾燥前（湿潤状態にある）の系状物である場合は、積層後、乾燥処理を施すことによって、接着がなされる。生分解性系状物が、紡糸後に乾燥、架橋

処理等を施した系状物である場合は、積層後、生分解性物質、例えば、生分解性ポリマーを不織布上に噴霧若しくは含浸し、乾燥処理を施すことによって接着がなされる。

このような積層体からなる不織布に用いられる系状物は、通常
5 系の様に柔軟性を有する巻き取り可能なものであれば特に制限されるものではない。確かに強度的に強いものほど好ましいが、上記特表平 9-510639 号公報に示されたように、織機や編み機にかけることができる程の強度は必要としない。すなわち、以下に述べるように、板状部材に巻き取ることができればよいものである。

10 このような系状物として、例えば、可溶化されたコラーゲンを紡糸原液として紡糸されたコラーゲン系状物が挙げられる。可溶化されたコラーゲン溶液を紡糸原液として紡糸されるとは、コラーゲン溶液を原料として湿式紡糸等の種々公知の紡糸方法（例えば上記特許文献 3～5 や特開平 6-228505 号公報、特開平 6-228
15 506 号公報など）により紡糸されることである。

また、可溶化されたコラーゲンとは、溶媒に溶解できるよう処理が施されたコラーゲンであって、例えば、酸可溶化コラーゲン、アルカリ可溶化コラーゲン、酵素可溶化コラーゲン、中性可溶化コラーゲン等が例示される。特に、可溶化処理と同時にコラーゲンの抗
20 原決定基であるテロペプチドの除去処理が施されているアテロコラーゲンが好適である。これらの可溶化方法については、特公昭 46-15003 号公報、特公昭 43-259839 号公報、特公昭 43-27513 号公報等に記載されている。なお、コラーゲンの由来については特に制限されるものではなく、上記した動物種、各
25 部位から抽出されたものが用いられる。

可溶化されたコラーゲン溶液の溶媒としてはコラーゲンを可溶化できるものであれば特に限定されない。代表的なものとしては塩酸、酢酸、硝酸等の希酸溶液や、エタノール、メタノール、アセトン

等の親水性有機溶媒と水との混合液、水などが挙げられる。これらは単独又は２種以上任意の割合で混合して用いてもよい。これらのうち好ましいのは水である。

また、コラーゲン溶液のコラーゲン濃度は、紡糸可能な濃度であれば特に限定されないが、好ましくは、約４～１０重量％であり、
5 さらに好ましくは、約５～７重量％である。

コラーゲン系状物の径は特に限定されないが、約５μm～１.５mm程度の外形を有するものが好適で、更に約１０～２００μm程度の外径を有するものが最適である。

10 コラーゲン系状物が湿式紡糸法により紡糸される場合、不織布に用いられるコラーゲン系状物は、湿式紡糸法により生成された乾燥前（湿潤状態にある）の系状物であっても、紡糸後に乾燥、架橋処理等を施した系状物であってもよい。

また、当該コラーゲン系状物を作製するための湿式紡糸法として
15 、親水性有機溶媒を使用する方法、架橋剤を使用する方法など様々な方法が挙げられる。中でも特に親水性有機溶媒を用いて紡糸されたコラーゲン系状物が好適に用いられる。

親水性有機溶媒を用いて湿式紡糸を行う場合、通常、コラーゲン溶液をノズルから連続的に親水性有機溶媒等の脱溶媒剤の充填された浴槽中に吐出し、脱水及び凝固させることによりコラーゲン系状物が得られる。用いる親水性有機溶媒としては、例えば、エタノール、メタノール、イソプロパノールなどの炭素数１～６のアルコール類、アセトン、メチルエチルケトンなどのケトン類等が挙げられる。これらは単独又は２種以上を任意の割合で混合して用いてもよい。このうち最も好ましい溶媒はエタノールである。親水性有機溶媒の含水率は、通常約５０容量％以下であり、好ましくは約３０容量％以下である。親水性有機溶媒を用いたコラーゲン溶液の紡糸（
25 脱水・凝固）工程は通常、室温乃至４２℃程度で行われ、一連の脱

水及び凝固による処理時間は約 4 ～ 5 秒から 5 時間である。

上述の不織布の製造方法について例示すれば図 1 に示すとおりである。この方法では、板状部材 1 を一定の回転軸 2 のもとに回転させて、上記で得たコラーゲン系状物を平行に巻き取り、系状物が複数本平行に配列された層を複数積層して第 1 の積層体を形成させ、次いで第 1 の積層体と接する部分において、互いに接する層の系状物の配列方向が角度をなすようにさらにコラーゲン系状物を平行に巻き取り、第 2 の積層体を形成させている。なお、図示例では、前記板状部材 1 の回転軸 2 を変えて第 2 の積層体を形成させている。

板状部材 1 は、それ自体が回転等することによって、コラーゲン系状物を巻き取ることができる部材である。その材質は、コラーゲン系状物と癒着が生じず、巻き取り状態を維持できる材質であれば特に限定されないが、好ましくは、金属、樹脂等であり、さらに好ましくはステンレス、ポリフッ化エチレン系樹脂等である。板状部材 1 の形状は、少なくとも 2 方向にコラーゲン系状物を巻き取ることが可能な形状であれば特に限定されないが、少なくとも 3 つの辺を有する板状若しくは枠状であることが好ましく、さらに好ましくは略正方形の板状若しくは枠状である。

板状部材 1 が一定の回転軸 2 のもとに回転するとは、板状部材 1 がその面に対して水平方向に貫通する軸を中心として自転することである。また、板状部材 1 の回転軸 2 を変えるとは、前記回転軸 2 とは別の板状部材 1 を貫通する軸 2 を中心として「前記回転軸と交差する、板状部材の別の 1 辺と平行な軸を中心として」自転させることをいう。回転軸 2 を変えることによって、コラーゲン系状物を板状部材 1 の別の方向に巻き取り、この操作を繰り返すことによって、上記系状物が平行に配列された第 1 の層と第 2 の層との積層体が複数積層された不織布が得られる。なお、図 1 中 3 は系状物を巻き取り方向に往復させる往復機構である。

また、板状部材 1 を回転させる駆動方法は、特に限定されないが、機械的な一定の駆動力によってなされることが好ましい。また、板状部材 1 の回転軸 2 を変える操作は、手動で方向転換させてもよく、自動的に回転軸 2 を変える装置等を用いて行ってもよい。工業的にコラーゲン不織布を製造する場合は、機械的に自動で回転軸 2 を変える装置を用いることが好ましい。

通常、板状部材 1 にコラーゲン系状物を一定の巻き取り幅で巻き取る場合、板状部材 1 の一边を複数回往復させるように巻き取った後に、板状部材 1 の回転軸 2 が変えられる。つまり、板状部材 1 の一边を一方向に巻き取ることにより一の層（第 1 の層）が形成され、板状部材 1 の該一边を逆方向に巻き取ることにより他の一の層（第 2 の層）が形成される。こうして、板状部材 1 の一边を往復させて巻き取れば、第 1 の層と第 2 の層が積層された積層体を得られる。従って、複数回往復させると、第 1 の層と第 2 の層がそれぞれその回数分だけ積層された積層体（第 1 の積層体）を得られる。系状物を往復して巻き取る際の、行きと帰りの系状物の配列方向のなす鋭角の角度は、通常、 20° 以下、好ましくは約 10° 以下である。この角度が、第 1 の層と第 2 の層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度（又は第 3 の層の系状物の配列方向と第 3 の層と接する層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度）となる。そして、この角度は、板状部材 1 の大きさと板状部材 1 の回転数及び往復機構 3 の往復速度によって調節される。また、回転軸 2 が変えられた後も同様に巻き取りが行われ第 2 の積層体を得られるが、回転軸 2 が変えられる前の系状物の配列方向と回転軸 2 が変えられた後の系状物の配列方向とのなす鋭角の角度は、通常、約 $70^{\circ} \sim 90^{\circ}$ であり、好ましくは、約 $80^{\circ} \sim 90^{\circ}$ である。この角度が、積層体同士が接する部分において接する層の系状物の配列方向がなす鋭角の角度となる。もちろん、一往復させるたびに板状部材 1 の回転軸 2 を変えて

も差し支えなく、板状部材 1 の一辺を一方向に巻き取り、その後板状部材 1 の回転軸 2 を変えて別な一方向に巻き取るようにしても差し支えない。後者の場合のように一方向に巻き取った後回転軸 2 を変えて巻き取った場合においてできる配列方向のなす鋭角の角度が、第 1 の層と第 2 の層の糸状物の配列方向がなす鋭角の角度（又は第 3 の層の糸状物の配列方向と第 3 の層と接する層の糸状物の配列方向がなす鋭角の角度）であり、この場合には、好ましくは約 70° ～ 90° である。また、このような往復運動により得られる積層体を何層にも積層させることができる。なお、このようにして得られた積層体の周縁部（いわゆる板状部材 1 の枠に相当する部分）にある薄い層の部分は、通例、切り取られる（図 2 及び図 3 参照）。

上記方法で得られるコラーゲン不織布に、必要によりさらに種々公知の物理的又は化学的架橋処理を施してもよい。架橋処理を施す段階は問わない。すなわち各種架橋処理を施した糸状物で前記不織布を形成してもよいし、前記不織布を形成した後、各種架橋処理を施してもよい。物理的架橋方法の例としては、γ線照射、紫外線照射、電子線照射、プラズマ照射、熱脱水反応による架橋処理などが挙げられ、化学的架橋方法の例としては、例えばジアルデヒド、ポリアルデヒドなどのアルデヒド類、エポキシ類、カルボジイミド類、イソシアネート類などとの反応、タンニン処理、クロム処理などが挙げられる。これらのうち、物理的架橋方法としては熱脱水架橋処理、化学的架橋方法としてはグルタルアルデヒドによる架橋処理が好適である。

また、上記方法で得られる生分解性不織布に対し、生分解性物質でコーティングを施してもよい。このコーティング物質には、コラーゲンやヒアルロン酸、ゼラチンなどが挙げられる。

このコーティング物質でコーティングを施す方法の一例としてバインダー処理が挙げられる。バインダー処理とは、不織布に溶液状

の材料を含浸させた後、適当な乾燥方法で乾燥を行い、不織布中の系状物同士の結合を補強する処理である。このバインダー処理によりコラーゲン不織布は膜状に成形され、未処理の不織布よりもはるかに物理的強度が向上し、従って縫合強度も格段に向上する。

- 5 ただし、バインダー処理を行う際には、コラーゲン不織布に架橋処理が施されていない場合、不織布層自身が含浸させた溶媒に溶解してしまう場合があるため、前述の架橋方法等で、前もって架橋処理を施しておくのが望ましい。また、必要に応じてコーティング処理後に再び架橋処理を施してもよい。これら以外にも、コラーゲン
10 不織布中の系状物同士の接合を補強する種々の方法を適宜使用することができる。

さらに、架橋処理を施した系状物に予め上記コーティング物質でコーティングを施した後に不織布を得ることにしてもよい。

- 15 また、上記不織布には、各層の系状物を絡ませる処理を施してもよい。処理方法としては、例えば、ニードルパンチにより積層されたコラーゲン不織布の各層の系同士を複雑且つランダムに絡み合わせる処理方法が挙げられる。このような処理によって、フェルト状に成形されたコラーゲン不織布を得ることができる。フェルト状に成形されたコラーゲン不織布は、必要に応じてバインダー処理を施し
20 てもよい。

- また、コラーゲン以外にもゼラチンのような生分解性物質から生分解性の系状物を得て作製された不織布を用いることもできるし、あるいは上記したような合成材料から生分解性の系状物を得て作製された不織布を用いることもできる。これらの不織布の作製にも公
25 知の方法が用いられ、例えばゼラチンを用いた例として上記特許文献6に記載された方法が例示される。

本発明の生分解性基材は、このようにして得られた不織布を生分解性の系状物で縫製したものである。つまり、この系状物（以下「

縫製用糸状物」という。)は、織布で例えるならば2次元状の織布を縦方向に織り込む縦系の機能を果たすものであり、不織布を構成する織り込まれていない糸状物や繊維がほぐれないように固定し不織布の強度を増す。図2に当該不織布に縫製が施されて生分解性基

5 材が作製される様子を示す。

この生分解性の縫製用糸状物は、通常の糸のように柔軟性を有する巻き取り可能なものであれば特に制限されるものではない。例えば上記した生分解性不織布の作製に用いられる糸状物がそのまま用いられる。また、この縫製用糸状物は、単糸でも撚り糸でもよく、

10 撚り糸である場合には撚りの糸本数は問わないが2～6本程度が好適である。また、撚り糸である場合には、撚りの過程で前述の架橋処理を施してもよいし、架橋処理を施した糸状物で撚りを施してもよい。

縫製するとは、上記生分解性単糸又は撚り糸を用いて文字通り不織布を縫うことである。例えば、直線縫い、なみ縫い、半返し縫い、

15 プランケットステッチなど、服飾業界等で用いられているような縫製方法のいずれでも実施可能であり、好ましくは不織布を構成する糸や繊維がほぐれない程度に縫製される。縫製は用手的に行ってもミシン等の機械を使用してもよい。また、縫製箇所は上記目的を

20 達成できるのであれば、その大きさ形状使用目的に応じた任意の位置でよいが、少なくとも生分解性不織布の周囲を縫製することが好ましく、望ましくは不織布の全面を均等に縫製するのがよい。また、不織布の全面に縫製を施す場合、縫製ラインを同一方向として縫製したり、縦横方向など縫製ラインをクロスして縫製を施す。また、

25 、好ましくは縫製ラインを約90°方向でクロスさせるのがよい。

また、縫製は必ずしも連続的な縫製でなくてもよく、座布団のような点での縫製でも差し支えない。縫製点の数はいくつでもよく、例えば不織布の中央部だけでもよいが、数が極端に少ないとたて糸

、よこ糸がほぐれやすくなるので、縫製点は均一に散在させるのが好ましい。

これら縫製や縫製点の間隔（ピッチ）についても特に制限はないが、約 0.1 mm～100 mmがよく、約 1 mm～10 mm 程度が
5 好適である。ただし、膜状の不織布を縫製したり、後述する膜状物を生分解性不織布に重ね合わせて縫製する場合には、縫製のピッチや縫製点の間隔をあまり細かくすると膜状物に穿たれた縫い穴が多くなりすぎ、逆に強度が低下する場合があるので注意を要する。

本発明では、上記の如く生分解性不織布を1枚だけ縫製するだけ
10 でなく、2枚、3枚と重ねて縫製してもよい。例えば、図3に示す如く生分解性不織布に別な生分解性の膜状物を重ね合わせて縫製してもよい。これによって、織布に近いあるいはそれ以上に厚みのある医療用基材を得ることができる。本発明による生分解性不織布の厚みは、特に制限されるものではなく、通例数百 μ m～数mm、大
15 きな場合では十数mm以上である。また、用途によってもその厚みは異なり、例えば後述する細胞培養基材の場合には、実用上5mm程度までである。

重ね合わされる生分解性膜状物は、前述の生分解性不織布や生分解性糸状物と同様コラーゲン、ゼラチン等の生体由来材料からなる
20 もの、あるいはPLA（ポリ乳酸）、PLA誘導体、PGA（ポリグリコール酸）、PGA誘導体及びPLA、PLA誘導体、PGA、PGA誘導体のうち何れか2種以上による共重合体等の生分解性合成材料からなるものが挙げられる。中でも、細胞親和性、生体適合性の点からコラーゲンが好適である。更に、可溶化処理と同時に
25 コラーゲンの抗原決定基であるテロペプチドの除去処理が施されているアテロコラーゲンが最適である。また、コラーゲンの由来については、特に限定されないが、一般的にはウシ、ブタ、鳥類、魚類、ウサギ、ヒツジ、ネズミ、人等が挙げられる。コラーゲンはこ

これらの動物種の皮膚、腱、骨、軟骨、臓器等から公知の各種抽出方法を用いることにより得られるものである。また、コラーゲンのタイプは、I型、II型、III型などの分類可能なタイプのうちいずれかに限定されるものではないが、取り扱い上の観点から、I型が特に好適である。また、不織布の由来と膜状物の由来との組み合わせは自由である。

形状としてはシート状若しくはフィルム状物でも、あるいは多孔を有するスポンジ状物でもよく、特に限定されるものではない。また、生分解性不織布等であっても差し支えないが、特に好ましくは生分解性不織布に上記の如く生分解性物質でバインダー処理したものがよい。

重ね合わせる膜状物の位置は特に限定されない。すなわち、生分解性不織布の上に重ねてもよく、下に重ねてもよい、また、生分解性不織布の間に重ねることもでき、積層枚数も制限がない。また、縫製系のテンション及び不織布の積層数を調整することにより、空隙率のコントロールが可能である。

このように本発明の生分解性基材は、生分解性不織布を生分解性糸状物で縫製したものであり、糸状物には織機や編み機に必要とされる強度を要することなく、織布と同様な性質、特に強度や厚みを有する生分解性基材を極めて簡単に得ることができる。また、不織布を単に糸状物を用いて縫っているだけであるので、技術的な困難性を伴わず、織機や編み機のような特別な機械も必要とすることなくミシンのような簡単な機械を用いるだけで作製できる。しかも、不織布を構成する糸状物や繊維は予め結合しているので織布に比べて切断した場合には糸がほぐれることが少なく、強度的に安定したものが簡単に製造できる。もちろん、不織布を縫製しただけであるので、細胞侵入性や物質透過性に影響を与えるものではなく、立体的に細胞を培養できる。

特に、複数本の糸状物が平行に配列されてなる第1の層と第2の層が積層された積層体を含む不織布を使用した場合には、積層された糸状物が縫製系によって固定されることになり、糸状物が平行に配列された第1の層、第2の層があたかもたて糸よこ糸をなすかの如く縫製され、不織布を構成する糸状物が解れずに済み、任意の形状にカットしても強度の低下を引き起こすことが少ない。また、第1の層、第2の層を数多く重ねるには、非常に長い糸状物を幾重にも巻き取らなければならないが、本発明によれば少ない層数の積層体を数多く積層することにより厚みのある基材を得ることができる。さらに、この不織布は極めて均一性のある厚みを有するので、湿式抄紙法で得られた不織布を重ね合わせて縫製したものに比べて、均一性に優れた基材を得ることができる。もちろん、縫製系のテンションを調整することによって、織布や編み布と同様に厚みや強度を比較的容易かつ自由に調整することもできる。

膜状物を重ね合わせる場合にも不織布と膜状物を接合するために特殊な方法を要せず、しかも両者は生分解性の糸状物で縫い合わされているため容易に分離せず、品質的にも安定な基材を簡単な方法で作製できる。

本発明の組織再生用補綴材はこのようにして得られた生分解性基材（縫製品）からなるものである。つまり、当該生分解性基材は、例えば組織工学分野・再生医療分野における、組織の再生を目的とした補填及び補綴材料として体内に移植される組織再生用補綴材（移植用基材）として用いることができる。すなわち、本発明による生分解性基材を体内又は体表面の組織欠損部に補填し、失われた生体組織の再生を促す。具体的には、例えば心膜、胸膜、脳硬膜、漿水膜等の膜状物として、外科手術の際に除去されたこれらの膜部位に直接適用できる。この生分解性基材は、生体組織を覆っている膜状物が再生するにつれ徐々に分解・吸収される。また、抜歯後の空

孔や歯骨に開けられた空孔内に補綴材として充填すれば、歯肉組織の再生や歯骨の再生が終わるまでの間、空孔を塞いでおくことができる。その他、人工血管、ステント、人工神経チャンネル、人工気管、人工食道、人工尿管などの管状物、その他袋状物に加工して生体内に埋設しておくこともできる。この管状物を作製する方法としては、得られた生分解性基材を、コラーゲン溶液を接着剤として、ポリフッ化エチレン系繊維製のチューブ等に巻き付けてゆき、乾燥後、チューブを引き抜く方法が挙げられる。

さらに、3次元構造物を作製するには、例えば厚みのある基材をそのまま裁断加工したり、鋳型に得られた基材を封入した上で、鋳型の穴から生分解性ポリマー溶液を注ぎ込み、各種方法を用いて乾燥させる方法が挙げられる。

また、本発明の培養組織は、上記本発明の生分解性基材に生体組織細胞が生着されたことを特徴としている。すなわち、本発明の生分解性基材は、接着性細胞等の各種細胞を体外で培養するための基材（細胞培養基材）としても利用できる。具体的には上記生分解性基材を一定形状に成形し、当該成形された培養用基材上で予め繊維芽細胞、軟骨細胞等の体組織を形成する細胞を常法に従って一定期間培養し、当該培養用基材の形状に細胞を増殖させて生体組織を形成した後、体内へ移植することもできる。ここで生体組織とは、生体外で人工的に組織細胞を培養させることが可能な組織を言い、心筋や血管、皮膚など培養ができる組織であれば全てに適用されるものである。例えば、心筋細胞を生分解性基材上で培養しておき、当該生分解性基材と共に移植したり、あるいは管状物に加工した上で血管内皮細胞や血管上皮細胞を培養した後に、当該生分解性基材と共に移植することができる。もちろん、移植後には基材は自然と分解、除去されるため、その後基材の除去手術が不要になる。

さらに、各種成長因子、薬剤、ベクター等を含浸させ、ドラッグ

デリバリーシステム用担体、徐放性薬剤用担体、遺伝子治療用担体等として利用することもできる。

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明の範囲は下記の実施例に限定されることはない。

5 〔実施例 1 コラーゲン不織布の作製〕

ブタ由来 I 型、III 型コラーゲン粉末（日本ハム株式会社製、S
O F D タイプ、Lot No. 0 1 0 2 2 2 6）を注射用蒸留水（大塚製
薬社製）に溶解し、7 重量％に調整した。そして、この 7 重量％コ
ラ ー ゲ ン 水 溶 液 を シ リ ン ジ （ E F D 社 製 D i s p o s a b l e
10 B a r r e l s / P i s t o n s , 5 5 m L ）に充填し、シリンジに装着した針より
該コラーゲン水溶液を空気圧によりエタノール槽中に吐出した。こ
の際シリンジには、E F D 社製 Ultra Dispensing Tips（2 7 G、
I D : Φ 0 . 2 1 m m）の針を装着した。吐出した 7 重量％コラーゲン
水溶液は脱水され糸状になったのち、エタノール槽から引き上げら
15 れた。引き上げられたコラーゲン糸状物を、前記エタノール槽とは
完全に分離独立した第 2 のエタノール槽に室温で約 3 0 秒間、浸漬
し、さらに凝固を施した。続いて、第 2 のエタノール槽から引き上
げたコラーゲン糸状物を図 1 に示す如く 1 5 r p m で回転している
1 辺 1 5 c m、厚さ 5 m m の板状部材に巻き取った。板状部材の直
20 前には、板状部材に均等にコラーゲン糸状物を巻き取っていくため
にコラーゲン糸状物の水平位置を周期的に移動させる往復機構が備
え付けられており、その往復速度は 1 . 5 m m / 秒とした（糸状物
は約 6 m m の間隔で巻き取られる）。巻き取り装置は、5 0 0 回巻
き取るたびに板状部材の回転軸を 9 0 度方向転換させるようにし、
25 5 0 0 回の巻き取りを 9 回繰り返す（合計巻き取り数 4 5 0 0 回、
計 9 層の積層体）、板状部材の両面にコラーゲン糸状物の層を有す
るコラーゲン巻き取り物を得た。次にこのコラーゲン巻き取り物を
、常温で 4 時間自然乾燥した後、巻き取り物の端部に沿って裁断し

、2枚のコラーゲン不織布を得た。そして、得られたコラーゲン不織布をバキュームドライオーブン（EYELA社製：VOS-300VD型）と油回転真空ポンプ（ULVAC社製：GCD135-XA型）を用いて135℃、減圧下（1 Torr以下）で24時間熱脱水架橋反応を行った。なお、このものの厚みは約3 mmであった。

〔実施例2 コラーゲン膜状物への2次加工〕

ブタ由来I型、III型混合コラーゲン粉末（日本ハム株式会社製、SOFDタイプ、Lot No. 010226）を注射用蒸留水（大塚製薬社製）に溶解し、1重量％に調整した。この1重量％に調整したコラーゲン水溶液を、実施例1で得た熱脱水架橋反応後のコラーゲン不織布1枚に含浸させ、膜状に成型した後、常温で十分に自然乾燥した。その後、前記と同じバキュームドライオーブンを用いて135℃、減圧下（1 Torr以下）で12時間熱脱水架橋反応を行い、膜状のコラーゲン不織布を得た。

〔実施例3 コラーゲン単系の製造〕

実施例1と同様にして7重量％のコラーゲン水溶液を調整した。そして、後述する紡糸環境全域の相対湿度を38％以下に保持した後、この7重量％コラーゲン水溶液を充填したシリンジ（EFD社製 Disposable Barrels/Pistons、55 mL）に、空気圧をかけてシリンジに装着した針より該コラーゲン水溶液を吐出した。この際シリンジには、EFD社製 Ultra Dispensing Tips（27 G、ID：0.21 mm）の針を装着した。吐出した7重量％コラーゲン水溶液は、99.5容量％エタノール（和光純薬、特級）3 Lを収容したエタノール槽で直ちに糸状に脱水・凝固した。エタノール槽から引き上げられた糸状コラーゲンを、99.5容量％エタノール（和光純薬、特級）3 Lを収容し前記エタノール槽とは完全に分離独立した第2のエタノール槽に室温で約30秒間、浸漬し、さらに脱水・凝固を施した。続いて、第2のエタノール槽から引き上げられた糸状

コラーゲンを、その周囲にドライエアーが送り込まれる送風乾燥機を約3秒間で通過させた後、糸が弛まないようにテンションプーリーで張力を保ちつつ、直径78mm、全長200mmのステンレス製ロール状巻き取り具を35rpmで回転させ、巻き取った。この
5 ロール状巻き取り具の際、ロール状巻き取り具の軸方向に1.5m/sの速度で往復させつつ巻き取り、シリンジに充填した7重量%コラーゲン水溶液が尽きるまで連続紡糸を行った。このようにしてコラーゲン単系のボビンを得た。

〔実施例4 コラーゲン単系の熱脱水架橋反応処理〕

10 実施例3で製造されたコラーゲン単系を、ステンレス製ロール状巻き取り具に巻き取られたままの状態の前記と同じバキュームドライオープンを用いて135℃、減圧下(1Torr以下)で24時間熱脱水架橋反応処理を行い、熱架橋処理が施されたコラーゲン単系のボビンを得た。

15 〔実施例5 コラーゲン不織布の縫製〕

実施例1にて作製されたコラーゲン不織布を6枚重ねて、実施例3にて作製されたコラーゲン単系を2本撚った撚り糸で縫製し、コラーゲンの糸構造を有する3次元的な生分解性基材を得た。縫製にはミシン(ジャガー株式会社製、Model KM-570)が使用された。
20 縫い模様はピッチが2~3mmである直線縫いで、コラーゲン不織布の周囲及び不織布の全面に縦横(約1cm間隔)に縫製した。

〔実施例6 コラーゲン不織布とコラーゲン膜状物の縫製〕

25 実施例1にて作製されたコラーゲン不織布と、実施例2にて作製された膜状に加工されたコラーゲン不織布を重ねて、実施例4にて作製された熱架橋処理が施されたコラーゲン単系を2本撚った撚り糸で縫製し、コラーゲンの糸構造を有する3次元的な生分解性基材を得た。縫製方法は実施例5と同様とした。

[実験例 1 繊維芽細胞培養実験]

実施例 5 にて得られたコラーゲン製基材上で、ヒト繊維芽細胞の培養を行った。培養には Medium 106S (基礎培地) 500 mL 及び LSGS (Low Serum Growthfactor Supplement) 10 mL (共に Cascade
5 Biologics社製) を混合した混合培地を用いた。

まず、コラーゲン不織布をシャーレ (CORNING社製、6 ウェル) に静置し、基材上に細胞濃度 4.0×10^5 個/mL となるように細胞を懸濁した上記の混合培地 1 mL を塗布した。その後、シャーレに培地 3 mL を静かに注入し、その後、37℃、CO₂ 濃度 5% の培養条件で静置培養を行った。
10

培養開始 14 日後における細胞の基材生着及び増殖の様子を図 4 に示す。その結果、縦横に配列されたコラーゲン系状物に、細胞の良好な生着が確認できた。また、基材を構成するコラーゲン系状物に沿って良好に増殖している様子が確認できた。このことから本発明によるコラーゲン製 3 次元培養基材としての機能を十分に有することが判明した。
15

[実験例 2 軟骨細胞培養実験]

実施例 5 にて得られたコラーゲン製基材上で、ヒト軟骨細胞の培養を行った。培養には、Basal Medium 500 mL 及び Growth Supplement 10 mL (共に CELL APPLICATIONS 社製) を混合した混合培地を用いた。
20

まず、コラーゲン不織布をシャーレ (CORNING社製、6 ウェル) に静置し、不織布上に細胞濃度 4.0×10^5 個/mL となるように細胞を懸濁した上記の混合培地 1 mL を塗布した。その後、シャーレに培地 3 mL を静かに注入し、その後、37℃、CO₂ 濃度 5% の培養条件で静置培養を行った。
25

培養開始 14 日後における細胞の基材生着及び増殖の様子を図 5 に示す。その結果、縦横に積層するコラーゲン系状物に細胞が良好

に生着し、また、基材を構成するコラーゲン系状物に沿って良好に増殖している様子が確認できた。このことから本発明によるコラーゲン製３次元培養基材が培養基材としての機能を十分に有することが確認できた。

5

産業上の利用可能性

本発明の生分解性基材は、生分解性不織布が、生分解性系状物によって縫製されているので、ミシンなどの簡易な装置によって、薄くて強度の弱い不織布から、細胞親和性に優れ、かつ厚みや強度のあるものを容易に得られる。また、不織布に用いられる生分解性系状物や縫製用の生分解性系状物は、織機や編み機に用いることができる程の強度を必要とせず、巻き取り可能な程度の強度のもので差し支えない。このため、従来からある公知の方法で得られる生分解性系状物をそのまま用いることができる。特に、コラーゲン系のよう

10 15 20

うに生分解性の系状物にあっては、高い強度のものを得にくい、このようなコラーゲン系でも十分に織布や編み布と近似した性質、例えば強度や厚みを有する生分解性の基材を得ることができる。しかも、裁断した場合には、織布のようにたて系、よこ系がほぐれる心配も少なく、自由な形状に成形加工できる。また、厚みや強度を比較的自由に調整できるので、３次元的に細胞培養可能な基材をたやすくしかも安価に得ることができる。

請 求 の 範 囲

1. 生分解性不織布が、生分解性糸状物によって縫製されたことを特徴とする生分解性基材。
2. 生分解性不織布と生分解性膜状物が重ね合わされ、生分解性糸状物によって両者が縫製されたことを特徴とする生分解性基材。
3. 前記生分解性膜状物が、フィルム状又はスポンジ状であることを特徴とする請求項2に記載の生分解性基材。
4. 前記生分解性不織布は、生分解性糸状物を複数本平行に配列されてなる第1の層と第2の層が、第1の層と第2の層との糸状物の配列方向が角度をなすように積層し、相互に接着している積層体を含むことを特徴とする請求項1～3の何れかに記載の生分解性基材。
5. 前記積層体は、第1の層又は第2の層の上に、さらに生分解性糸状物が複数本平行に配列された第3の層が、該第3の層の糸状物の配列方向と該第3の層と接する層の糸状物の配列方向が角度をなすように積層し、相互に接着していることを特徴とする請求項4に記載の生分解性基材。
6. 前記第1の層の糸状物の配列方向と第2の層の糸状物の配列方向がなす鋭角の角度及び／又は前記第3の層の糸状物の配列方向と該第3の層と接する層の糸状物の配列方向がなす鋭角の角度が、約20°以下であることを特徴とする請求項4又は5の何れかに記載の生分解性基材。
7. 前記第1の層の糸状物の配列方向と第2の層の糸状物の配列方向がなす鋭角の角度及び／又は前記第3の層の糸状物の配列方向と該第3の層と接する層の糸状物の配列方向がなす鋭角の角度が、約70°～90°であることを特徴とする請求項4又は5の何れかに記載の生分解性基材。
8. 前記生分解性不織布は、糸状物を配列されてなる層が複数積層

された前記積層体を複数含み、積層体同士が接する部分において互いに接する層の糸状物の配列方向が角度をなすように積層体が積層し、相互に接着していることを特徴とする請求項4～7の何れかに記載の生分解性基材。

- 5 9. 各層において配列された各糸状物がなす鋭角の角度が、約0～5°であることを特徴とする請求項4～8の何れかに記載の生分解性基材。

10 10. 各層において配列された糸状物の間隔が約0～40mmであることを特徴とする請求項4～9の何れかに記載の生分解性基材。

- 10 11. 縫製が点状になされたことを特徴とする請求項1～10の何れかに記載の生分解性基材。

12. 前記縫製の間隔が約0.1mm～100mmであることを特徴とする請求項11に記載の生分解性基材。

- 15 13. 前記生分解性不織布の表面及び／又は生分解性糸状物の表面が生分解性物質でコーティングされたことを特徴とする請求項1～12の何れかに記載の生分解性基材。

- 20 14. 前記生分解性物質が、コラーゲン、ゼラチン、PLA、PLA誘導体、PGA及びPGA誘導体並びにPLA、PLA誘導体、PGA、PGA誘導体のうち何れか2種以上による共重合体からなる群から選ばれた何れか1種以上からなることを特徴とする請求項13に記載の生分解性基材。

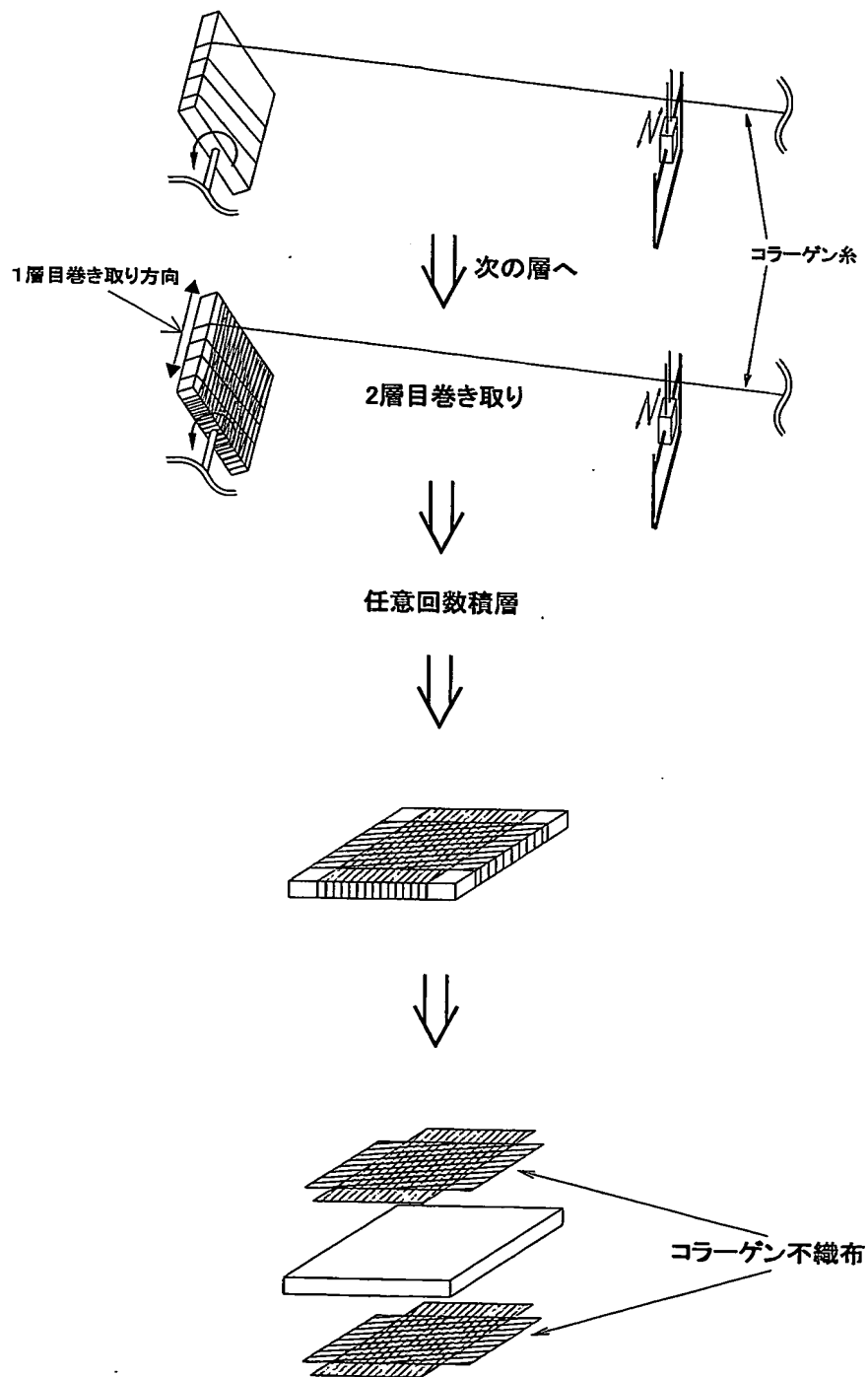
- 25 15. 前記生分解性不織布及び／又は前記生分解性糸状物が、コラーゲン、ゼラチン、PLA、PLA誘導体、PGA及びPGA誘導体並びにPLA、PLA誘導体、PGA、PGA誘導体のうち何れか2種以上による共重合体からなる群から選ばれた何れか1種以上からなることを特徴とする請求項1～14の何れかに記載の生分解性基材。

16. 生体組織の欠損部に補填される組織再生用補綴材であって、

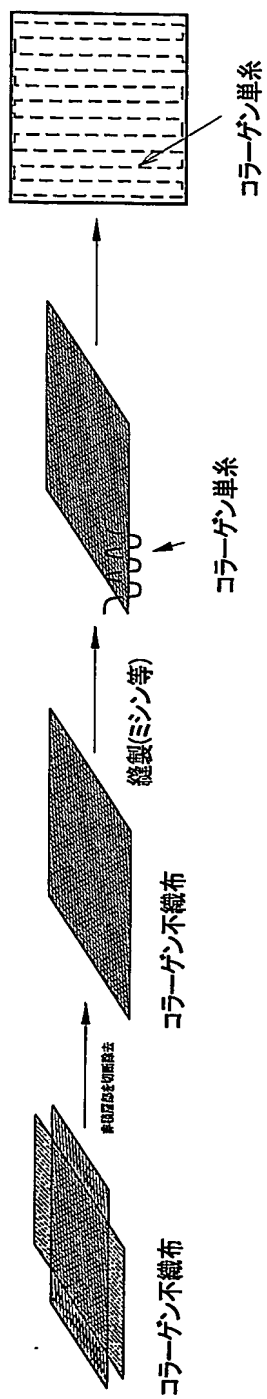
請求項 1 ～ 1 5 の何れかに記載の生分解性基材からなることを特徴とする組織再生用補綴材。

1 7 . 請求項 1 ～ 1 5 の何れかに記載の生分解性基材に生体組織細胞が生着されたことを特徴とする培養組織。

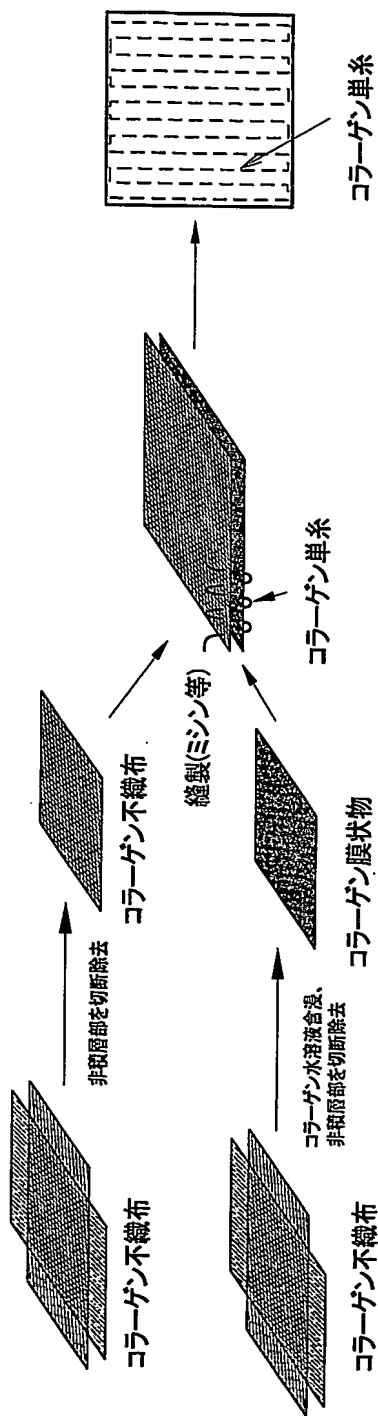
第 1 図



第 2 図



第 3 図



第 4 図



BEST AVAILABLE COPY

第 5 図



BEST AVAILABLE COPY

BEST AVAILABLE COPY

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/13847

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ B32B5/26, A61L27/14, A61L27/56, A61L27/38

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ B32B1/00-35/00, D04H1/00-18/00, A61L27/00-27/60

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2004	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2000-271207 A (Nissho Corp.), 03 October, 2000 (03.10.00), (Family: none)	1-17
X	JP 2000-210376 A (Nissho Corp.), 02 August, 2000 (02.08.00), (Family: none)	1-17
X	JP 2000-93497 A (Nissho Corp.), 04 April, 2000 (04.04.00), (Family: none)	1-17
P, X	JP 2003-301362 A (Nipro Corp.), 24 October, 2003 (24.10.03), (Family: none)	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09 February, 2004 (09.02.04)Date of mailing of the international search report
02 March, 2004 (02.03.04)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ B32B5/26, A61L27/14, A61L27/56, A61L27/38

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ B32B1/00-35/00, D04H1/00-18/00, A61L27/00-27/60

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996年

日本国公開実用新案公報 1971-2004年

日本国登録実用新案公報 1994-2004年

日本国実用新案登録公報 1996-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2000-271207 A (株式会社ニッショー) 2000.10.03 (ファミリーなし)	1-17
X	JP 2000-210376 A (株式会社ニッショー) 2000.08.02 (ファミリーなし)	1-17
X	JP 2000-93497 A (株式会社ニッショー) 2000.04.04 (ファミリーなし)	1-17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.02.2004

国際調査報告の発送日

02.3.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

川端 康之

印

4S

9156

電話番号 03-3581-1101 内線 3430

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P X	J P 2 0 0 3 - 3 0 1 3 6 2 A (ニプロ株式会社) 2003. 10. 24 (ファミリーなし)	1 - 1 7